

Title	Structural and spatial chromatin features at developmental gene loci in human pluripotent stem cells( Abstract_要旨 )
Author(s)	Ikeda, Hiroki
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2018-01-23
URL	<a href="https://doi.org/10.14989/doctor.k20812">https://doi.org/10.14989/doctor.k20812</a>
Right	
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	ETD

京都大学	博士（医科学）	氏名	池田宏輝
論文題目	Structural and spatial chromatin features at developmental gene loci in human pluripotent stem cells (ヒト多能性幹細胞における発生関連遺伝子座が持つクロマチンの構造的空間的な特徴の解析)		
(論文内容の要旨)			
<p>【目的】多能性幹細胞の重要な性質の一つは多分化能である。多能性幹細胞において多分化能を規定する発生関連遺伝子は、分化刺激に対して速やかに応答するよう転写準備状態を保っている。本研究では、その遺伝子座のクロマチン高次構造、核内配置の網羅的な解析を行い、発生関連遺伝子の転写制御機構と染色体の高次構造や核内配置との関係を調べることを目的とした。</p> <p>【方法・結果】まず始めに、複数の遺伝子座におけるクロマチンの相互作用を網羅的に同定することのできる multiplexed splinkerette Chromosome Conformation Capture Combined with high-throughput sequencing (ms4C-seq)を開発した。多能性幹細胞において、発生関連遺伝子の多くは転写制御領域に転写活性型(H3K4me3)と転写不活性型(H3K27me3)のヒストン修飾が共在する特徴的な修飾様式を持っており、こうした遺伝子はバイバレント遺伝子と呼ばれている。このことから、公共のヒストン修飾データを統合的に利用して多能性幹細胞におけるバイバレント遺伝子を同定し、ms4C-seq を用いて 29 のバイバレント遺伝子座を含む 89 遺伝子座のクロマチン相互作用プロファイルを解析した。その結果、バイバレント遺伝子のような体細胞初期化の前後で転写の再活性化を伴わない遺伝子においても、クロマチン相互作用が再構築されることを見出した。さらに、核膜近傍に位置するクロマチン領域を同定することのできる LMNB1-DamID のデータを用いてバイバレント遺伝子の核内配置を調べた。その結果、バイバレント遺伝子は体細胞において核膜付近に局在するが、多能性幹細胞では活性型遺伝子と同様に核の内側に局在するものが多い事が分かった。加えて、体細胞の初期化前後でのクロマチン相互作用の再編と核内配置の再編には関連があること、多能性幹細胞においてバイバレント遺伝子座同士が共局在していることを見出した。また、shRNA を用いた遺伝子のノックダウン実験により、バイバレントヒストン修飾の形成に重要な因子 polycomb repressive complex 1 及び 2 や trithorax group のタンパク質がバイバレント遺伝子座の共局在に関与することを明らかにした。</p> <p>【考察】活性型遺伝子では共局在を通して協調的な発現制御がなされていることが知られており、本研究で得られたバイバレント遺伝子の共局在も協調的な遺伝子発現制御と関連したものではないかと考えられる。また、核膜付近ではクロマチンが凝集し転写が抑制されることが知られており、多能性幹細胞においてバイバレント遺伝子が核膜から遊離した核内配置を持っているのは、分化シグナルに対する即自的な応答を可能にするためのものではないかと考えられる。加えて、胚発生に重要な役割を担っている polycomb repressive complex や trithorax group が多能性幹細胞における発生関連遺伝子の共局在に関与していることが示唆されたことから、胚発生の制御機構解明に関する研究への発展が期待される。</p>			

(論文審査の結果の要旨)
<p>多能性幹細胞は多分化能を有しており、この能力の根底となる分化関連遺伝子群の制御機構を解明することは重要な課題である。多能性幹細胞における分化関連遺伝子の多くは活性型と不活性型が共在する特殊なヒストン修飾（バイバレント修飾）によるエピジェネティック制御を受けている。本研究では、それらバイバレント遺伝子座の体細胞初期化過程及び多能性幹細胞における核内配置や染色体高次構造の解析を目的とした。申請者は、数十のゲノム領域の染色体相互作用を高精度で同定できる ms4C-seq を開発し、核内配置に関する公共データとの統合的解析により、バイバレント遺伝子座の染色体高次構造が体細胞初期化過程で再編されること、染色体の相互作用形成と核内配置に関連性があることを示した。また、多能性幹細胞においてバイバレント遺伝子座は発現に抑制的に働く核膜近傍ではなく核内部で共局在することを見出した。最後に、バイバレント修飾に関わる EED、RING1B、WDR5 の発現抑制実験により、これらが多能性幹細胞におけるバイバレント遺伝子座の共局在に寄与していることを示した。本結果は、多能性幹細胞において分化関連遺伝子群が核内部での共局在を通して協調的に制御されていることを示唆するものである。以上の研究は分化能制御機構における染色体高次構造や核内配置が担う役割の解明に貢献し細胞の運命転換機構に関する研究の進展に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（医科学）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成29年12月21日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>
要旨公開可能日：                      年                      月                      日以降